

## تأثیر متیل جازمونات و سالیسیلیک اسید در افزایش تحمل به سرمای بوته های جوان فلفل دلمه ای

یسری مرادمند(۱)، مصطفی مبلی(۲)، علی اکبر رامین(۲)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد باغبانی دانشگاه صنعتی اصفهان ۲- استادان گروه باغبانی دانشگاه صنعتی اصفهان

گیاه فلفل دلمه ای محصول فصل گرم است و نسبت به دماهای پایین حساس می باشد و در دماهای پایین غیر یخ زدگی دچار سرمازدگی بوته ها می شود. روش های مختلفی برای مقابله یا کاهش سرمازدگی وجود دارد. از مواد شیمیایی که در سال های اخیر روی اثرات آن ها در کاهش سرمازدگی کار شده است می توان سالیسیلات ها و جازمونات ها را نام برد. بنابراین مطالعه ای بر روی گیاه فلفل دلمه ای رقم امیلی (گلخانه ای) صورت گرفت تا تأثیر ترکیبات سالیسیلیک اسید و متیل جازمونات در افزایش تحمل به سرمای فلفل دلمه ای مورد بررسی قرار گیرد. آزمایش به صورت فاکتوریل  $2 \times 7$  در ۴ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. فاکتور اول شامل سالیسیلیک اسید در سه غلظت ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی مولار و متیل جازمونات در سه غلظت ۰/۰۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی مولار همراه با یک شاهد(آب مقطر) و فاکتور دوم روش استفاده از هورمون بود که شامل هورمون پاشی روی بوته ها تا حد آب چک و ریختن محلول پای بوته ها بود. پس از تهیه نشا و انجام تیمارهای هورمونی در مرحله ۹-۷ برگی گیاهان برای ۳ روز در دمای صفر درجه سانتیگراد قرار گرفتند. و پس از آن برای سه روز در دمای گلخانه نگهداری و شاخص های مختلفی اندازه گیری شد. نتایج به دست آمده از آزمایش حاکی از آن بود که تیمارهای سالیسیلیک اسید و متیل جازمونات نسبت به شاهد میزان مقاومت به سرمای گیاهان فلفل دلمه ای را افزایش دادند که تأثیر سالیسیلیک اسید بیشتر از متیل جازمونات بود. هورمون سالیسیلیک اسید در غلظت ۰/۱ میلی مولار در رقم امیلی به صورت معنی داری در تمامی فاکتورهای اندازه گیری شده وضعیت گیاهان فلفل را پس از سرمازدگی نسبت به گیاهان شاهد بهبود بخشیده بود. در میان غلظت های به کار رفته متیل جازمونات غلظت ۰/۰۱ میلی مولار بهتر از ۰/۱ میلی مولار در افزایش مقاومت به سرمای گیاهان جوان عمل کرده بود. بنابراین به نظر می رسد استفاده از هورمون های سالیسیلیک اسید و متیل جازمونات در کاهش میزان سرمازدگی گیاهان فلفل در غلظت های پایین مؤثر باشد. در اکثر موارد تفاوتی در روش کاربرد تیمار هورمون مشاهده نشد.

### مقدمه

یکی از مهمترین عوامل تعیین کننده انتشار، بقای گونه های گیاهی، رشد و باروری آن ها میزان مقاومت آن ها در مقابل تنش های محیطی می باشد. خسارات زیادی در بخش کشاورزی و باغبانی به سبب قرار گرفتن گیاهان در شرایط محیطی نامطلوب می باشد و این زیان های اقتصادی سالیانه میلیاردها دلار تخمین زده می شود. بسیاری از گیاهان و محصولات گیاهی به ویژه آن هایی که منشا گرمسیری و نیمه گرمسیری دارند در نتیجه قرار گرفتن در معرض دماهای پایین غیر یخ زدگی دچار آسیب های فیزیولوژیک می شوند که سرمازدگی نامیده می شود. بنابراین ایجاد روش هایی به منظور تحریک مقاومت به تنش ها در گیاهان و محصولات گیاهی ضروری می باشد و همواره توجهات زیادی را به خود معطوف نموده است. از مواد شیمیایی که در سال های اخیر بر روی آن ها در کاهش سرمازدگی کار شده است می توان سالیسیلات ها و جازمونات ها را نام برد. بنابراین به منظور بررسی اثر این مواد در افزایش تحمل به سرمای گیاهان فلفل دلمه ای این تحقیق صورت گرفت.

### مواد و روش ها

آزمایش بر روی رقم گلخانه ای امیلی به صورت فاکتوریل  $2 \times 7$  در ۴ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. فاکتور اول شامل سالیسیلیک اسید در سه غلظت ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی مولار و متیل جازمونات در سه غلظت ۰/۰۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی مولار همراه با یک شاهد(آب مقطر) و فاکتور دوم روش استفاده از هورمون بود که شامل هورمون پاشی روی بوته ها تا حد آب چک و ریختن محلول پای بوته ها بود. پس از اعمال تیمارها گیاهان برای ۳ روز در دمای صفر درجه نگهداری و پس از ۳ روز قرار گرفتن گیاهان در دمای گلخانه شاخص هایی نظیر علائم ظاهری سرمازدگی، فلورسانس کلروفیل و کلروفیل نسبی اندازه گیری شدند. به منظور اندازه گیری شاخص هایی نظیر قندهای محلول و پرولین نمونه های برگ به میزان ۰/۱ گرم پس از تثبیت در نیتروژن مایع در فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد تا زمان اندازه گیری نگهداری شدند. به منظور تعیین میزان علائم

ظاهری سرمازدگی در گیاهان، تمامی گیاهان فلفل دلمه ای بر مبنای اعداد ۱ تا ۵ طبقه بندی شدند. (با بزرگ شدن عدد میزان بروز علائم سرمازدگی افزایش می یافت). میانگین آسیب ها برای هر تیمار محاسبه شد. اندازه گیری میزان کلروفیل نسبی برگ توسط دستگاه کلروفیل سنج [مدل CL-01] (ساخت کشور انگلستان، شرکت Hansatech instruments Ltd) انجام گرفت.

میزان فلورسانس کلروفیل کلیه نمونه ها در پایان آزمایش با استفاده از دستگاه سنجش فلورسانس کلروفیل Plant Efficiency analyzer [مدل RS232] (ساخت کشور انگلستان، شرکت ELE International) اندازه گیری شد. بدین منظور از هر گیاه بالاترین برگ بالغ انتخاب و به مدت ۳۰ دقیقه به وسیله گیره های دستگاه تاریکی داده شد. و سپس با باز کردن دریچه و تاباندن نور به برگ راندمان فتوشیمیایی سیستم نوری II، [Fv/Fm]، به وسیله دستگاه فلورسانس سنج اندازه گیری گردید. جهت اندازه گیری میزان قندهای محلول تهیه عصاره از نمونه ها طبق روش مارتینز و همکاران [۶] با اندکی تغییر صورت گرفت. اندازه گیری میزان قندهای محلول نیز طبق روش پیشنهادی دابیوس و همکاران [۳] و میزان پرولین آزاد نمونه ها به روش بیتز و همکاران [۲] اندازه گیری شد.

آنالیز آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه 9.1)<sup>۱</sup> و مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون دانکن (DMRT) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

#### نتایج و بحث

مقایسه میانگین ها (جدول ۱) نشان داد که بیشترین علائم ظاهری سرمازدگی مربوط به تیمار شاهد و کمترین علائم ظاهری سرمازدگی مربوط به تیمار سالیسیلیک اسید ۰/۱ میلی مولار می باشد که با شاهد اختلاف معنی داری دارد. سایر تیمارها نیز به بطور معنی داری علائم ظاهری سرمازدگی را کاهش داده اند. سناراتا و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که سالیسیلیک اسید در غلظت های ۰/۱ و ۰/۵ میلی مولار موجب زنده ماندن و بقای گیاهان لوبیا و گوجه فرنگی پس از سرمازدگی شده است [۷]. سناراتا و همکاران (۲۰۰۳) نیز گزارش کردند که سالیسیلیک اسید مشتقات آن در غلظت های کم موجب بقای گیاهان لوبیا و گوجه فرنگی پس از سرمازدگی نسبت به گیاهان شاهد شدند [۸]. یانگ و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که سالیسیلیک اسید ۱ میلی مولار مقاومت به سرما را در گیاهان هندوانه افزایش می دهد اگر چه غلظت های بالاتر سالیسیلیک اسید میزان مقاومت به سرما را کم کرده بود. به عبارتی دیگر سالیسیلیک اسید در کمترین غلظتی که به کار برده شده بود به خوبی عمل نموده بود و غلظت های بالاتر از ۱ میلی مولار از سالیسیلیک اسید موفق عمل نکرده بودند [۹].

مقایسه میانگین تیمارهای مختلف (جدول ۱) نشان داد که تمامی گیاهانی که تیمارهای هورمونی دریافت کردند میزان شاخص FV/FM بالاتری را نسبت به تیمار شاهد دارند که از این بین اثر تیمارهای متیل جازمونات ۰/۰۰۱ و ۰/۰۱ میلی مول در لیتر و سالیسیلیک اسید ۰/۱ میلی مول در لیتر معنی دار گردید. که نشان دهنده تنش کمتر نسبت به شاهد می باشد. این نتایج با یافته های دیگران مطابقت دارد. جاندا و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که کاربرد سالیسیلیک اسید به میزان ۰/۵ میلی مولار در گیاه ذرت در شرایط تنش سرما نسبت Fv/Fm را افزایش داده است [۴].

مقایسه میانگین تیمارهای مختلف هورمون (جدول ۱) نشان داد که تمامی گیاهانی که تیمارهای هورمون دریافت کردند میزان کلروفیل نسبی را افزایش داده اند که برای تمامی تیمارها به جز تیمار سالیسیلیک اسید ۱ میلی مولار این افزایش معنی دار است. بیشترین میزان کلروفیل نسبی در تیمار متیل جازمونات ۰/۰۱ میلی مولار مشاهده شد. کمترین میزان کلروفیل نسبی در تیمار شاهد مشاهده شده بود.

<sup>1</sup> - Statistical analysis system (SAS), version 9.1

مقایسه میانگین‌ها (جدول ۱) نشان داد که در مجموع همگی تیمارهای هورمونی به جز متیل جازمونات ۰/۱ میلی مولار نسبت به تیمار شاهد میزان قندهای محلول را افزایش دادند. بیشترین میزان قندهای محلول مربوط به تیمار سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی مولار بود. همچنین محلول دهی پای بوته نسبت به محلول پاشی موجب افزایش قندهای محلول شد. بروز تحمل به تنش با تغییر در مواد اسمز زای درون یاخته همراه است که تیمار با سالیسیلیک اسید با تحریک هیدرولیز قندهای نامحلول یا پروتئین‌ها نقش تنظیم اسمزی را برای یاخته ایفا می‌کند. باغبانها و همکاران (۱۳۸۶) گزارش کردند که کاربرد سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی مولار در دانهال‌های لیمو در تنش یخ زدگی توانست به صورت معنی داری میزان قندهای محلول را افزایش دهد [۱].

مقایسه میانگین‌ها (جدول ۱) نشان داد که در مجموع تمامی تیمارهای هورمونی به جز تیمار متیل جازمونات ۰/۰۰۱ میلی مولار به صورت معنی داری میزان پرولین را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند. روش محلول پاشی روی بوته نسبت به روش محلول دهی پای بوته میزان پرولین را به صورت معنی داری افزایش داد. در گیاهان آلی پرولین در واکنش به تنش‌های زنده و غیر زنده همچون تنش آبی و سرمازدگی تجمع می‌یابد. محتوای پرولین در گیاهان سازگار شده به سرما بیشتر از گیاهان غیر سازگار گزارش شده است و گیاهان سازگار به سرما سریعتر از گیاهان غیر سازگار بهبود یافته‌اند. محتوای پرولین در ساقه و برگ گیاهان فلفل نیز به وسیله تنش سرما افزایش یافته است و همبستگی مثبتی بین تحمل به یخ زدگی و افزایش غلظت پرولین در ساقه و برگ فلفل پس از قرار گرفتن در دمای پایین مشاهده شده است [۵].

جدول ۱: تاثیر هورمون‌بر روی صفات اندازه‌گیری شده در رقم امیلی\*

تیمار (میلی مول در لیتر)	علائم ظاهری سرمازدگی	کلروفیل نسبی (SPAD)	فلورسانس کلروفیل (FV/FM)	پرولین (میکرومول پرولین در گرم وزن تر)	قندهای محلول (میلی گرم در گرم وزن تر)	
شاهد (صفر)	۳/۷۰۰a	۶/۵۰c	۰/۷۴۳c	۰/۷۹e	۵/۰۳۸d	
متیل جازمونات (۰/۰۰۱)	۲/۴۵۰b	۷/۹۴ab	۰/۷۸۷a	۱/۵۱de	۹/۷۴۴bc	
متیل جازمونات (۰/۰۱)	۲/۷۸۷b	۸/۸۵a	۰/۷۸۳ab	۲/۴۱c	۱۰/۲۷۵bc	
متیل جازمونات (۰/۱)	۲/۵۸۲b	۸/۵۱a	۰/۷۶۷a-c	۳/۳۸b	۷/۲۸۴cd	
سالیسیلیک اسید (۰/۱)	۲/۴۱۴b	۷/۸۰ab	۰/۷۸۹a	۴/۴۴a	۱۰/۷۴۹bc	
سالیسیلیک اسید (۰/۵)	۲/۶۶۳b	۷/۸۰ab	۰/۷۷۰ a-c	۴/۸۴a	۱۴/۱۹۰a	
سالیسیلیک اسید (۱)	۲/۸۲۱b	۷/۱۵bc	۰/۷۵۲bc	۱/۸۴cd	۱۲/۶۴۳ab	
3 2 1	محلول پاشی روی بوته	۲/۳۹۱a	۷/۷۸a	۰/۷۶۵a	۳/۲۶a	۸/۹۸b
	محلول دهی پای بوته	۲/۶۲۲a	۷/۸۱a	۰/۷۷۷a	۲/۲۳b	۱۱/۱۳a

\*در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون دانکن (DMRT) در سطح احتمال

۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند

۱- علائم ظاهری بر مبنای اعداد ۱ تا ۵ می باشد. (با بزرگ شدن عدد میزان بروز علائم سرمازدگی بیشتر است).

- [۱] باغبانها، م.، رفتوحی قزوینی، ع. حاتم زاده و م. حیدری. ۱۳۸۶. اثر سالیسیلیک اسید بر تحمل تنش یخ زدگی در نهال های لیمو آب شیراز. مجله علوم و فنون باغبانی ایران، جلد ۸، شماره ۳، ص: ۱۹۸-۱۸۵.
- [2] Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*. 39 : 205-207.
- [3] Dubios, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28:350-356.
- [4] Janda, T., G. Szalai., I. Tari and E. Pa'ldi. 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effect of chilling injury in maize (*Zea mays L.*) plants. *Planta* 208:175-180.
- [5] Koc, E., C. Islek and A.S. Ustun. 2010. Effect of Cold on Protein, Proline, Phenolic Compounds and Chlorophyll Content of Two Pepper (*Capsicum annum L.*) Varieties. *G.U. Journal of Science*. 23(1): 1-6.
- [6] Martinez, J., S. Lutts, A. Schanck, M. Bajji and J. Kinet. 2004. Is osmotic adjustment required for water stress resistance in the Mediterranean shrub *Atriplex halimus L.* *J. Plant physiology*. 161:1041-1051.
- [7] Senaratna, T., D. Touchell., E. Bunn and K. Dixon. 2000. Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regul* 30:157-161.
- [8] Senaratna, T., D. Merritt., K. Dixon., E. Bunn., D. Touchell and K. Sivasithamparam. 2003. Benzoic acid may act as the functional group in salicylic acid and derivatives in the induction of multiple stress tolerance in plants. *Plant Growth Regulation*. 39:77-81.
- [9] Yang J.H., G. Yuan., L.Y. Man., Q.X. Hua and Z.M. Fang. 2008. Salicylic acid-induced enhancement of cold tolerance through activation of antioxidative capacity in watermelon. *Scientia Horticulturae* .118: 200-205.

### Abstract

Bell pepper plant is a warm season crop which is sensitive to low temperatures and when its seedlings exposed to low (non-freezing) temperatures, shows chilling injury. There are different methods to reduce chilling injury. Among the Chemicals that their effects on reducing chilling injury has recently been studied are salicylates and jasmonates. Therefore a study was carried out on "Emily" (a greenhouse cv.) to find out the effects of salicylic acid and methyl jasmonate on increasing the tolerance of bell pepper to chilling temperatures. The experiment was done as 7×2 factorial in a completely randomized design (CRD) with four replications. The first factor contains salicylic acid in three concentrations of 0.1, 0.5 and 1mM and methyl jasmonate in the concentrations of 0.001, 0.01 and 0.1mM plus control (distilled water) and the second factor was the method of application of hormone that involved spraying plants and soil drenching. Three days after application of hormones on 7-9 leaf stage seedlings, plants moved to incubator in 0° centigrade. After 3 days, the seedlings were returned to greenhouse temperature in order to show visible symptoms of chilling injury. The results of experiment showed that salicylic acid and methyl jasmonate treatment increased bell pepper plant tolerance to chilling stress compared to untreated plants. Salicylic acid was more effective than methyl jasmonate. Salicylic acid in the rate of 0.1mM for all measured parameters improved situation following chilling compared to untreated plants.

Methyl jasmonate in concentration of 0.01 mM were more effective than 0.1 mM in reducing chilling stress. Thus it seems lower concentrations of salicylic acid and methyl jasmonate were more effective.. Also in most cases, results showed that there was no significant differences between two methods of applications of hormone.